

Małgorzata Wegner, Maria Pioruńska-Stolzmann

Katedra Chemii i Biochemii Klinicznej, Zakład Chemii Ogólnej Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Znaczenie IL-12 w rozwoju i przebiegu cukrzycy typu 1

The impact of IL-12 on the process of development and occurrence of diabetes type 1

STRESZCZENIE

Interleukina-12 jest glikoproteiną złożoną z 2 podjednostek: p35 i p40. Jej udział w tworzeniu odpowiedzi immunologicznej jest złożony. Zazwyczaj pobudza odpowiedź typu komórkowego, może także stymulować odpowiedź humoralną. Biologiczne właściwości sprawiają, że IL-12 odgrywa istotną rolę w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznym, w tym w cukrzycy typu 1. Interleukina 12 aktywnie uczestniczy w procesie autodestrukcji komórek beta wysp trzustkowych, poprzez pobudzanie produkcji interferonu gamma, cytokiny wzmacniającej cytotoksyczne właściwości komórek NK i makrofagów. Prowadzi to do rozwoju pełnoobjawowej cukrzycy typu 1. Działanie IL-12 przyczynia się również do rozwoju blaszki miażdżycowej, nasilając powikłania typu makroangiopatii. (Diabet. Prakt. 2008; 9: 176–181)

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, IL-12, odpowiedź immunologiczna, miażdżyca

ABSTRACT

Interleukin 12 is a glycoprotein composed of two subunits: p35 and p40. The contribution of IL-12 in immune response is complex: the cytokine induces cell-mediated immunity but plays a role also in hu-

moral response. IL-12 takes an important role in pathogenesis of autoimmune diseases, like diabetes type 1. IL-12 through activating differentiation Th0 in Th1, which products high levels of interferon gamma activates cytotoxic properties of NK cells and macrophages. It leads to development of the diabetes type 1. IL-12 activity also promotes atherosclerotic plaque formation leading to macroangiopathy development. (Diabet. Prakt. 2008; 9: 176–181)

Key words: diabetes type 1, IL-12, immune response, atherosclerosis

Wstęp

Cukrzyca typu 1 jest przewlekłą chorobą autoimmunologiczną, której istotą są następstwa zniszczenia komórek beta wysp trzustkowych produkujących insulinę [1–3]. Mimo licznych, prowadzonych od wielu lat badań dotyczących etiopatogenezy cukrzycy typu 1 nadal pozostaje ona nie w pełni wyjaśniona [4–6]. Najbardziej popularny „kopenhaski model” patogenezy cukrzycy typu 1 zakłada, że proces autodestrukcji komórek beta wynika z równoczesnego oddziaływania czynników pochodzenia wewnątrzkomórkowego (cytokiny, wolne rodniki) i czynników środowiskowych (wirusy, toksyny, składniki pożywienia) [7]. Początkowym etapem autoimmunizacji jest *insulitis* — proces polegający na naciekaniu wysp trzustkowych przez komórki jednojądrzaste, głównie CD4+ — limfocyty pomocnicze oraz limfocyty CD8+ — cytotoksyczne [8–11]. W procesie autodestrukcji komórek beta wiodącą rolę odgrywają komórki CD4+ Th1 aktywujące odpowiedź typu komórkowego [12–14]. Wytwarzana przez komórki prezentujące antygen interleukina-12 (IL-12) jest cytokiną odpowiedzialną za różnicowanie się

Adres do korespondencji: mgr Małgorzata Wegner
Zakład Chemii Ogólnej UM

ul. Grunwaldzka 6, 60–780 Poznań

tel.: (061) 854 65 90; faks: (061) 854 65 99

e-mail: malgoweg@ump.edu.pl

Diabetologia Praktyczna 2008, tom 9, 3–4, 176–181

Copyright © 2008 Via Medica

Nadesłano: 11.09.2008

Przyjęto do druku: 29.09.2008

naïwnych limfocytów pomocniczych (Th0) w Th1, co wskazuje na jej bezpośredni związek z patogenezą cukrzycy typu 1 [2, 13, 15].

Budowa i aktywność biologiczna interleukiny-12

Interleukina 12 jest glikoproteiną zbudowaną z 2 różnych podjednostek: p35 i p40 [16, 17]. Łańcuch lekki tworzący podjednostkę p35 składa się ze 197 aminokwasów (w tym 7 cząsteczek cysteiny), łańcuch ciężki — z 306 aminokwasów (w tym 10 cząsteczek cysteiny). Cząsteczki cysteiny są odpowiedzialne za tworzenie 3 mostków disiarczkowych wewnątrz podjednostki p35 i 1 takiego mostka łączącego obie podjednostki [18]. Geny kodujące obie podjednostki są zlokalizowane na 2 różnych chromosomach: p35 na chromosomie 3., natomiast p40 — na chromosomie 5. Transkrypcja genu dla p35 jest zależna od transkrypcji genu dla p40: podjednostka lżejsza jest produkowana tylko w obecności podjednostki cięższej [19]. Natomiast p40 może być produkowana w dużym nadmiarze w stosunku do heterodimeru IL-12p70, tworząc homodimer IL-12p40 lub monomer p40 [20]. Homodimer IL-12p40 jest naturalnym antagonistą heterodimeru, na zasadzie inhibicji kompetycyjnej, wypiera on IL-12p70 z połączeń z jego receptorem, sam zajmując jego miejsce [16, 21, 22]. Monomer p40 prawdopodobnie odgrywa również rolę chemoatraktantu dla makrofagów [23].

Komórkami produkującymi IL-12 są komórki prezentujące antygen (APC, *antigen presenting cells*): monocyty-makrofagi oraz komórki dendrytyczne [24]. Niektóre inne komórki (keratynocyty, komórki Langerhansa) również wykazują zdolność do produkcji IL-12 [16].

Czynnikami silnie stymulującymi produkcję IL-12 są bakterie oraz wirusy. Stężenie IL-12 wzrasta szczególnie wyraźnie w przebiegu zakażeń patogenami wewnątrzkomórkowymi [25, 26]. Znane są dwa podstawowe mechanizmy stymulacji syntezy IL-12: niezależny od komórek T oraz zależny od komórek T [16]. W mechanizmie niezależnym od komórek T produkty bakteryjne, takie jak lipopolisacharyd (LPS, *lipopolisaccharide*), kwas lipotejchojowy, peptydoglikan, indukują produkcję cytokiny za pośrednictwem stymulacji receptorów Toll-podobnych (TLR, *toll like receptors*) należących do receptorów rozpoznających patogeny (PRR, *pathogen recognition receptors*). Obecność tych receptorów na komórkach APC jest jednym z czynników warunkujących aktywację pierwotnej odpowiedzi nieswoistej [27, 28]. Natomiast

mechanizm zależny od komórek T wiąże się z interakcją receptora CD40 z komórkami APC z jego ligandem CD40L znajdującym się na limfocytach T. W wyniku tej stymulacji dochodzi do aktywowania i różnicowania komórek Th0 w Th1 [24, 29, 30]. Produkcję IL-12 pobudzają również inne cytokiny: IL-18 oraz interferon gamma (IFN- γ , *interferon gamma*) [31–33]. Cytokinami zmniejszającymi produkcję IL-12 są: IL-10, IL-11 oraz IL-13 [21]. Prostaglandyny E₂, histamina, glukokortykoidy, katecholaminy oraz niektóre wirusy, na przykład wirus zespołu nabytego braku odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*), również wpływają na zmniejszenie produkcji i/lub sekrecji IL-12 [34, 35].

Cytokiny należą do cząsteczek odgrywających kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej, jej homeostazie, różnicowaniu komórek i pamięci immunologicznej [21]. Interleukina 12 należy do cytokin o pleiotropowym działaniu, uczestnicząc przede wszystkim w indukowaniu odpowiedzi typu komórkowego, ale także odpowiedzi typu humoralnego [17]. Wzmacnia cytotoksyczną aktywność komórek NK, makrofagów i komórek dendrytycznych oraz pobudza wytwarzanie przez te komórki IFN- γ [16, 26, 36] i różnicowanie Th0 w Th1, promując odpowiedź typu komórkowego, a równocześnie ograniczając odpowiedź typu humoralnego poprzez zahamowanie różnicowania komórek Th0 w Th2 [8, 19, 36]. Jednocześnie jednak IL-12 pobudza proliferację aktywnych komórek B i wytwarzanie przez nie przeciwciał, wzmacniając na tej drodze odpowiedź typu humoralnego [17]. Wykazano również, że w przypadku braku stymulacji antygenowej IL-12 indukuje apoptozę komórek T poprzez aktywację kaspazy-3 i kaspazy-7 [37].

Transmisja sygnału wywołanego IL-12 zachodzi za pośrednictwem receptora dla IL-12 (IL12R) znajdującego się na komórkach efektorowych dla IL-12 [16]. Składa się on z 2 podjednostek: α_1 i α_2 , kodowanych przez 2 różne geny znajdujące się odpowiednio dla chromosomie 19. i 1. Podjednostka p40 IL-12 łączy się z podjednostką β_1 , natomiast p35 — z β_2 , która odpowiada za przekazanie sygnału do wnętrza komórki [38]. Receptor IL12, jak większość receptorów dla cytokin, nie wykazuje własnej aktywności enzymatycznej, natomiast przenosi sygnał za pomocą kinaz Janusa (JAKs, *Janus kinases*) [39]. Następnie sygnał jest przenoszony na wewnątrzkomórkowy przekaźnik drugiego rzędu (STAT4, *signal transducers and activators of transcription*) przewodzący sygnał do jądra komórkowego [40–42].

Wpływ IL-12 na patogenezę cukrzycy typu 1

Charakterystyczną cechą chorób o podłożu autoimmunologicznym jest nadprodukcja cytokin związanych z odpowiedzią typu Th1 [43], do których między innymi należy IL-12 [44]. Wyniki badań wskazują, że IL-12 odgrywa istotną rolę w procesie nieodwracalnego niszczenia komórek β wysp trzustkowych i rozwoju cukrzycy typu 1 [1, 15, 16]. Indukowanie reakcji immunologicznej przez IL-12 wynika z jej zdolności do pobudzania odpowiedzi typu komórkowego i jednoczesnego hamowania odpowiedzi typu humoralnego, co prowadzi do zaburzenia równowagi prawidłowej reakcji immunologicznej [45]. Interleukina-12 jest kluczową cytokiną uczestniczącą w procesie różnicowania komórek Th0 w Th1. Komórki Th1 poprzez IL-2 i IFN- γ aktywują aktywność cytotoksyczną komórek NK i makrofagów, prowadzącą do zniszczenia komórek β wysp trzustkowych [12, 46].

Wyniki badań na nieotyłych myszach z wywołaną cukrzycą (NOD, *non-obese diabetic mouse*) umożliwiły zaobserwowanie kilku etapów procesu niszczenia komórek β wysp trzustkowych. Naciek limfocytarny pojawia się w 4. tygodniu życia zwierząt i stopniowo się pogłębia, tak że około 15. tygodnia życia dochodzi do ujawnienia się pełnoobjawowej choroby w części populacji. W 30. tygodniu życia u 80% samic i u prawie 100% samców występują objawy cukrzycy typu 1 [1]. Wyniki badań histopatologicznych wskazują, że komórkami odpowiedzialnymi za zainicjowanie procesu autodestrukcji komórek β są limfocyty Th1 [47], których różnicowanie i podział zależą od obecności IL-12 [25, 48]. Interesujący jest fakt, że przenoszenie choroby z osobników chorych na zdrowe jest możliwe poprzez przeszczepianie im komórek Th1. Odnotowano również podobny przypadek u ludzi, kiedy doszło do rozwoju cukrzycy typu 1 u biorcy szpiku od osoby chorej na cukrzycę [49]. Natomiast bezpośrednio procukrzycowe oddziaływanie IL-12 wykazano w doświadczeniu, w którym myszom typu NOD podawano IL-12. Okazało się, że u wszystkich myszy, którym podawano cytokinę, rozwinęła się cukrzyca typu 1, podczas gdy w grupie kontrolnej, nieotrzymującej egzogennej IL-12, odsetek chorych osobników wynosił 65% [15]. Również w badaniach wpływu IL-12 na komórki beta wysp trzustkowych hodowanych *in vitro* w różnych stężeniach glukozy wykazano, że wydzielanie insuliny wskutek wysokich stężeń glukozy ulega obniżeniu pod wpływem IL-12. Obserwacje te wskazują zatem na bezpośrednie toksyczne działanie cytokiny na komórki beta [50].

O istotnym udziale IL-12 w patogeniezie cukrzycy typu 1 świadczy również podwyższona ekspresja tej cytokiny w obrębie nacieku limfocytarnego komórek beta [13, 51, 52]. Ciekawych wniosków dostarczyły także badania Walleta i Tischa [2], którzy ujawnili, że komórki dendrytyczne wyizolowane z myszy typu NOD z rozwiniętą cukrzycą typu 1 wykazują „hiperzapalny” fenotyp, produkując nadmierną ilość IL12p70 oraz czynnik martwicy nowotworu (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*). Charakterystyczną cechą wspomnianych komórek dendrytycznych jest ich zwiększona zdolność do stymulacji komórek CD4+ i CD8+ naciekających komórki beta wysp trzustkowych.

Ze względu na fakt, że IL-12 odgrywa tak znaczącą rolę w patogeniezie cukrzycy typu 1, zbadano także genetyczne podłoże wpływu IL-12 na rozwój choroby. Udowodniono, że na rozwój cukrzycy typu 1 może wpływać mutacja genu kodującego podjednostkę p40. Zaobserwowano, że osoby z polimorfizmem pojedynczego nukleotydu tego genu (3'UTR), nazywanego polimorfizmem C1159A, cechują się zwiększonym ryzykiem zachorowania [53, 54].

Interleukina-12 nie jest jedyną cytokiną zaangażowaną w autodestrukcję komórek β wysp trzustkowych. Do innych cytokin przyczyniających się do zniszczenia komórek β należą: IL-1 α i IFN- γ . Wykazują one zdolność aktywacji makrofagów do wytwarzania syntetazy tlenu azotu (iNOS, *nitric oxidase synthase*), co prowadzi do wysokiego miejscowego stężenia tlenu azotu (NO, *nitric oxide*). Podwyższone stężenie NO uszkadza DNA komórek wysp trzustkowych, aktywując p35 i polimerazę PARP (PARP, *poly-ADP-ribose-polymerase*), co w konsekwencji prowadzi do apoptozy komórek β [55–57].

Interleukina-12 jako cel interwencji terapeutycznych w cukrzycy typu 1

Interleukina-12 przyczynia się niewątpliwie do autodestrukcji komórek β wysp trzustkowych. Jednym z inhibitorów IL-12p70, który mógłby być wykorzystany w prewencji cukrzycy typu 1, jest IL-10. U myszy typu NOD, którym podano egzogenną IL-10 w 9.–10. tygodniu życia, nie doszło do rozwoju cukrzycy typu 1, a wyniki badań histopatologicznych ujawniły, że u tych osobników nie wystąpiło zjawisko naciekania komórek β wysp trzustkowych przez limfocyty Th1 [58]. Kolejnym antagonistą, który być może znajdzie zastosowanie w zapobieganiu autoimmunizacji komórek β wysp trzustkowych, jest TNF- α [16]. Naturalnym antagonistą IL-12p70 jest także jej homodimer IL-12p40. W badaniu przeprowadzonym na transgenicznych myszach typu NOD

produkujących homodimer IL-12 tylko w obrębie nacieku wysp trzustkowych zaobserwowano, że zwiększona lokalna produkcja IL-12p40 spowodowała istotne zmniejszenie liczby przypadków zachorowań na cukrzycę [1]. Kolejnym miejscem ingerencji mającej na celu zablokowanie diabetogennego działania IL-12 jest droga przechodzenia sygnału z receptora do jądra komórkowego. Zaobserwowano bowiem, że u myszy typu NOD pozbawionych genu kodującego STAT4 nie dochodzi do rozwoju cukrzycy [40]. Przedstawione powyżej wyniki badań dają nadzieję, że w przyszłości będzie można zapobiegać rozwojowi cukrzycy typu 1 także u ludzi.

Interleukina-12 i późne powikłania cukrzycy o charakterze makroangiopatii

Ryzyko zachorowania i zgonu w przebiegu choroby niedokrwiennej serca rozwijającej się na podłożu makroangiopatii jest bardzo wysokie u chorych na cukrzycę typu 2, ale także na cukrzycę typu 1 [59]. Interleukina-12 należy do cytokin o charakterze promiażdżycowym, ponieważ aktywnie uczestniczy w powstawaniu blaszki miażdżycowej, między innymi poprzez aktywację komórek CD4+CD28– [60, 61]. Wykazano, że komórki CD4+CD28– na swojej powierzchni posiadają receptor dla IL-12, nawet przy braku stymulacji antygenowej. W obecności IL-12 nasilają się właściwości chemotaktyczne tych komórek, co powoduje ich migrację pod warstwę śródbłonna, stanowiąc wczesny etap formowania się blaszki miażdżycowej [62, 63]. Wyniki badań wskazują, że ekspresja IL-12p70 w obrębie blaszki miażdżycowej jest podwyższona [64]. Zwiększone stężenie IL-12 w miejscu tworzenia blaszki wynika między innymi z jej produkcji przez komórki dendrytyczne, które uczestniczą w budowie blaszki [65]. Interleukina-12 poprzez indukcję apoptozy komórek mięśni gładkich ściany naczynia (VSMC, *vascular smooth muscle cells*) może prowadzić do destabilizacji blaszki [66]. Proaterogenny charakter IL-12 potwierdzono w badaniach przeprowadzonych na myszach pozbawionych zarówno apolipoproteiny E (apoE), jak i podjednostki p40 IL-12. Wykazano, że myszy te miały mniejsze zmiany miażdżycowe w porównaniu z myszami pozbawionymi tylko apoE [67]. W swoich badaniach Wen i wsp. wykazali, że podwyższone stężenia glukozy u myszy dodatnio korelują ze wzrostem stężenia IL-12 we krwi [68]. Stymulujący wpływ wysokich stężeń glukozy na produkcję cytokiny jest kolejnym wyjaśnieniem prozapalnego charakteru hiperglikemii. Również końcowe produkty glikacji (AGE, *advanced glycation*

endproducts) stymulują makrofagi do zwiększonej produkcji IL-12 [69].

Cukrzycy, również typu 1, często towarzyszy dyslipidemia [70]. W trakcie trwania choroby dochodzi między innymi do powstawania oksydowanych lipoprotein o małej gęstości (oxLDL); te zmienione cząsteczki przyczyniają się do zwiększonej produkcji IL-12 przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej, co prowadzi do nasilenia odczynu zapalnego leżącego u podłoża miażdżycy/makroangiopatii [71].

Podsumowanie

W Polsce na cukrzycę typu 1 cierpi około 1,5% populacji [72]. Poszukiwanie mechanizmów odpowiedzialnych za patogenezę choroby daje dużą szansę, że w przyszłości poprzez wdrożenie odpowiedniego leczenia będzie można zapobiec cukrzycy, a nawet całkowicie ją wyleczyć. Interleukina-12 jest jedną z kluczowych cytokin uczestniczących w procesie destrukcji komórek β wysp trzustkowych, dlatego też uzasadnione wydaje się prowadzenie badań na dużą skalę, dotyczących udziału tej cytokiny w rozwoju i przebiegu choroby.

PIŚMIENNICTWO

1. Nitta Y., Kaumato S., Tashiro F. i wsp. IL-12 plays a pathologic role at the inflammatory loci in the development of diabetes in NOD mice. *J. Autoimmunol.* 2001; 16: 97–104.
2. Wallet M.A., Tisch R. Type I diabetes, inflammation and dendritic cells. *Drug Des. Disc.* 2006; 3: 373–379.
3. Szelachowska M., Szepietowska B. Zaburzenia immunologiczne w cukrzycy. *Diabetol. Prakt.* 2004; 5: 355–363.
4. Cerna M. Genetics of autoimmune diabetes mellitus. *Wien. Med. Wochenschr.* 2008; 158: 2–12.
5. Bosi E., Sanugeri E. Advanced and controversies in etiopathogenesis of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 1998; 11: 293–305.
6. Siewko K., Szelachowska M., Popławska-Kita A., Górka M., Kinalska I. Etiopatogeneza cukrzycy typu 1. Część I. *Przegl. Kardiodiabetol.* 2007; 3: 158–162.
7. Freisleben de Blasio B., Bak P., Pociot F., Karlsen A.E., Nerup J. Onset of type 1 diabetes. A dynamical instability. *Diabetes* 1999; 48: 1677–1685.
8. Adorini L. Interleukin-12, a key cytokine in Th1-mediated autoimmune diseases. *Cell. Mol. Life Sci.* 1999; 55: 1610–1625.
9. Krętkowski A. Współczesne poglądy na etiopatogenezę cukrzycy typu 1. *Diabetol. Doświad. Klin.* 2003; 3: 395–404.
10. Gepts W., Lecompte P.M. The pancreatic islets in diabetes. *Am. J. Med.* 1981; 70: 105–115.
11. Thiviolet C., Bendelac A., Bedossa P., Bach J.F., Carnaud C. CD8+T cell homing to the pancreas in the nonobese diabetic mouse in CD4+ cell-dependent. *J. Immunol.* 1991; 146: 85–88.
12. Adorini L. Interleukin 12 and autoimmune diabetes. *Nat. Genet.* 2001; 27: 131–132.
13. Nakazawa T., Satoh J., Takahashi K. i wsp. Complete suppression of insulinitis and diabetes in NOD mice lacking interferon regulatory factor-1. *J. Autoimmun.* 2001; 17: 119–125.

14. Foulis A.K., McGill M., Farquharson M.A. Insulinitis in type 1 (insulinitis dependent) diabetes mellitus in man: macrophages, lymphocytes and interferon- α -containing cells. *J. Pathol.* 1991; 165: 97–103.
15. Trembleau S., Panna G., Bosi E. i wsp. IL-12 administration induces Th1 cells and accelerates autoimmune diabetes in NOD mice. *J. Exp. Med.* 1995; 181: 817–821.
16. Caspi R.R. Short analytical review IL-12 in Autoimmunity. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1998; 88: 4–13.
17. Li L., Young D., Wolf S.F., Choi Y.S., Choi Y.S. Interleukin-12 stimulates b-cell growth by inducing IFN- γ . *Cell Immunol.* 1996; 168: 133–140.
18. Wolf S.F., Temple P.A., Kobayashi M. Cloning of cDNA for natural killer cell stimulatory factor, a heterodimeric cytokine with multiple biologic effects on T and natural killer cells. *J. Immunol.* 1991; 146: 3074–3081.
19. Yilmaz V., Sibel P., Yentur S.P., Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production. *Cytokine* 2005; 30: 188–194.
20. Gubler U., Chua A.O., Schoenhaut D.S. i wsp. Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991; 88: 4143–4147.
21. Watford W.T., Moriguchi M., Morinobu A., O'Shea J.J. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003; 14: 361–368.
22. Fan X., Sibalic V., Niederer E., Wuthrich R.P. The proinflammatory cytokine interleukin-12 occurs as a cell membrane-bound form on macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996; 225: 1063–1067.
23. Ha S.J., Lee Ch., Lee S. i wsp. A novel function of IL-12p40 as a chemotactic molecule for macrophages. *J. Immunol.* 1999; 163: 2902–2908.
24. Ma X. TNF- α and IL-12: a balancing act in macrophage functioning. *Microbes and Infection* 2001; 3: 121–129.
25. Scott P., Trinchieri G. IL-12 as an adjuvant for cell-mediated immunity. *Immunology* 1997; 9: 285–291.
26. Wilkinson V.L., Rajeev R., Warrier R.R. i wsp. Characterization of anti-mouse IL-12 monoclonal antibodies and measurement of mouse IL-12 by ELISA. *J. Immunol. Methods* 1996; 189: 15–24.
27. Barton G.M., Medzhitov R. Control of adaptive immune responses by Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2002; 14: 380–383.
28. Tokarz-Deptuła B., Niedzwiedzka P., Deptuła W. Receptory Toll-podobne — nowe znaczniki w immunologii. *Alergia Astma Immunologia* 2006; 11: 23–26.
29. Kang B.Y., Kim E., Sung Kim T. Regulatory mechanisms and their therapeutic implications of interleukin-12 production in immune cells. *Cell Signal.* 2005; 17: 665–673.
30. Cleveland M.G., Gorham J.G., Murphy T.L., Tuomanen E., Murphy K.M. Lipoteichoic acid preparation of gram-positive bacteria induce interleukin-12 through a CD14-dependent pathway. *Infect Immun.* 1996; 64: 1906–1912.
31. Masuda H., Atsumi T., Fujisaku A., Shimizu Ch., Yoshioka N., Koike T. Acute onset of type 1 diabetes accompanied by acute hepatitis: the potential role of proinflammatory cytokine in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2007; 75: 357–361.
32. Lawless V.A., Zhang S., Ozes O.N. i wsp. STAT4 regulates multiple components of IFN- γ -inducing signaling pathways. *J. Immunol.* 2000; 165: 6803–6808.
33. Ma X., Chou J.M., Gri G. The interleukin 12 p40 gene promoter is primed by interferon gamma in monocyte cells. *J. Exp. Med.* 1996; 183: 147–157.
34. Elenkov I.J., Webster E., Papanicolaou D.A., Fleisher T.A., Chrousos G.P., Wilder R.L. Histamine potent suppresses human IL-12 and stimulates IL-10 production via H2 receptors. *J. Immunol.* 1998; 161: 2586–2593.
35. Elenkov I.J., Papanicolaou D.A., Wilder R.L., Chrousos G.P. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. *Proc. Assoc. Am. Physicians.* 1996; 108: 374–381.
36. Stern A.S., Magram J., Presky D.H. Interleukin-12 an integral cytokine in the immune response. *Life Sci.* 1996; 58: 639–654.
37. Fan H., Walters C.S., Dunston G.M., Tackey R. IL-12 plays a significant role in the apoptosis of human T-cells in the absence of antigenic stimulation. *Cytokine* 2002; 19: 126–137.
38. Presky D.H., Yang H., Minetti L.J. i wsp. A functional interleukin-12 receptor complex is composed of two β -type cytokine receptor subunits. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93: 14002–14007.
39. Zou J., Presky D.H., Wucy A., Gubler U. Differential associations between the cytoplasmic regions of the interleukin-12 receptor subunits β 1 and β 2 and JAK kinases. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 6073–6077.
40. Wincewicz A., Moniuszko T., Sulkowska M., Rutkowski R., Koda M., Sulkowski S. Udział białek STAT w patogenezie chorób autoimmunologicznych. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2005; 14: 785–790.
41. Naeger L.K., McKinney J., Salvekar A. i wsp. Identification of a STAT4 binding site in the interleukin-12 receptor required for signaling. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 1875–1878.
42. Rao A., Avni O. Molecular aspects of T-cell differentiation. *Br. Med. Bull.* 2000; 56: 969–984.
43. Trembleau S., Penna G., Gregori S. i wsp. IL-12 administration accelerates autoimmune diabetes in both wild-type and IFN- γ -deficient nonobese diabetic mice, revealing pathogenic and protective effects of IL-12-induced IFN- γ . *J. Immunol.* 2003; 170: 5491–5501.
44. Brombacher F., Kastelein R.A., Gottfried A. Novel IL-12 family members shed light on the orchestration of Th1 responses. *Trends Immunol.* 2003; 24: 207–212.
45. Magram J., Connaughton S., Warier R. i wsp. IL-12 deficient mice are defective in IFN- γ production and type 1 cytokine responses. *Immunity* 1996; 4: 471–482.
46. Cnop M., Welsh W., Jonas J. Ch. i wsp. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 97–107.
47. Katz J.D., Benoist C., Mathis D. T helper cell subsets in insulin-dependent diabetes. *Science* 1995; 268: 1185–1188.
48. Rothe H., Burkart V., Faust A. i wsp. Interleukin-12 gene expression is associated with rapid development of diabetes mellitus in non-obese diabetic mice. *Diabetologia* 1996; 39: 119–122.
49. Bach J.-F. Insulin-dependent diabetes mellitus as a β -cell targeted disease of immunoregulation. *J. Autoimmun.* 1995; 8: 439–463.
50. Sternesjo S., Sandler S. Effects of interleukin-12 in vitro on pancreatic islets isolated from non-obese diabetic mice. *J. Endocrinol.* 1998; 158: 69–75.
51. Alleva D.G., Pavlovich R.R., Grant Ch. i wsp. Elevated interleukin (IL)-12 and imbalance in tumor necrosis factor- α and IL-10 define a unique cytokine profile in macrophages from young nonobese diabetic mice. *Diabetes* 2000; 49: 1106–1115.
52. Karsvik S., Ludvigsson J., Vaarala O. Abberant regulation of interleukin-12 receptor β 2 chain on type 1 cytokine-stimulated T lymphocytes in type 1 diabetes. *Immunology* 2005; 114: 287–293.
53. Bergholdt R., Ghandil P., Johannesen J. i wsp. Genetic and functional evaluation of an interleukin-12 polymorphism (IDDM18) in families with type 1 diabetes. *J. Med. Genet.* 2004; 41: 39.
54. Davoodi-Semiromi A., Yang J.J., She J.-X. IL-12p40 is associated with type 1 diabetes in caucasian American families. *Diabetes* 2002; 51: 2334–2336.
55. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W.L., Sorensen O., Bleackley R.Ch. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in pancreatic islets of nonobese diabetic mice: identification of iNOS-expressing cells in the islets. *Endocrinol.* 1996; 137: 2093–2099.

56. Pirot P., Cardozo A., Eizirik D.L. Mediators and mechanisms of pancreatic beta cell in type 1 diabetes. *Arg. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2008; 52: 156–165.
57. Holoha C., Szegezdi E., Ritter T. i wsp. Cytokine-induced beta-cell apoptosis is NO-dependent, mitochondria-mediated and inhibited by BCL-X (L). *J. Cell. Mol. Med.* 2008; 11: 591–606.
58. Pennline K.J., Roque-Gaffney E., Monahan M. Recombinant human IL-10 prevents the onset of diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1994; 71: 169–175.
59. Avogaro A., Fadini G., Vigili de Kreutzenberg S. i wsp. Coronary heart disease in diabetes. *International Congress Series* 2007; 1303: 70–73.
60. Cola C., Clement E., Biondi-Zoccai G. From carotid plaque biology to serologic markers of vulnerability to predict risk of cerebrovascular events. *Arch. Acta. Belg.* 2007; 107: 129–142.
61. Wegner M., Dworacka M., Winiarska H. Interleukina-12 — kolejne ogniwo łączące cukrzycę typu 2 z miażdżycą. *Diabet. Prakt.* 2007; 8: 425–430.
62. Banach M., Markuszewski L., Zasłona J. i wsp. Rola zapalenia w patogenezie miażdżycy. *Przegl. Epidemiol.* 2004; 58: 663–670.
63. Zhang X., Niessner A., Nakajima T. i wsp. Interleukin 12 induces T-cell recruitment into the atherosclerotic plaque. *Circ. Res.* 2006; 98: 524–531.
64. Uyemura K., Demer L.L., Castle S.C. i wsp. Cross-regulatory roles of interleukin-(12) and IL-10 in atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 2130–2138.
65. Yilmaz A., Weber J., Cicha I. i wsp. Decrease in circulating myeloid dendritic cell precursors in coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 48: 70–80.
66. Jia G., Cheng G., Soundararajan K. i wsp. Insulin-like growth factor-I receptors in atherosclerotic plaques of symptomatic and asymptomatic patients with carotid stenosis: effect of IL-12 and IFN- γ . *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2007; 292: 1051–1057.
67. Hauer A.D., Vyttenhore C., de Vos P. i wsp. Blokade of interleukin-12 function by protein vaccination attenuates atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112: 1054–1062.
68. Wen Y., Gu J., Shu-Lian L. i wsp. Elevated glucose and diabetes promote interleukin-12 cytokine gene expression in mouse macrophages. *Endocrinology* 2006; 147: 2518–2525.
69. Ge J., Ja Q., Liang C. i wsp. Advanced glycosylation end products might promote atherosclerosis through inducing the immune maturation of dendritic cells. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 2157–2163.
70. Standardy opieki medycznej nad chorymi na cukrzycę. *Przegl. z Diabetes Care* 2002; 25 (supl. A): 33–49. *Diabet. Prakt.* 2002; 3 (supl. A): 45–69.
71. Fei G-Z., Huang Y.H., Swedenborg J., Frostegard J. Oxidised LDL modulates immune-activation by an IL-12 dependent mechanism. *Atherosclerosis* 2003; 169: 77–85.
72. Kawalec P., Kielar M., Pilc A. Koszty leczenia cukrzycy typu 1 i 2 w Polsce. *Diabet. Prakt.* 2006; 7: 287–294.